

И.А. Ракитянская¹, Т.С. Рябова^{1,2}, У.А. Тоджибаев¹,
А.А. Калашникова³, А.Н. Бельских², М.В. Захаров²,
А.С. Мануилов², А.В. Саватеев⁴

Применение методик эфферентной терапии в комплексном лечении пациентов, страдающих хронической инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна – Барр

¹Городская поликлиника № 112, Санкт-Петербург

²Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

³Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова, Санкт-Петербург

⁴1477-й Военно-морской клинический госпиталь, Владивосток

Резюме. Обосновывается возможность применения методик эфферентной терапии в комплексном лечении пациентов, страдающих хронической инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна – Барр. Установлено, что до начала терапии колебания количества копий дезоксирибонуклеиновой кислоты вируса Эпштейна – Барр на 1 мл образца слюны в группе пациентов с хронической инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна – Барр, составили от 1×10^3 до $9,68 \times 10^5$ копий. Через 10 дней после курса процедур (плазмообмена + плазмосорбции) у 55% пациентов выявлено достоверно значимое снижение количества копий дезоксирибонуклеиновой кислоты вируса Эпштейна – Барр с $327483,33 \pm 87070,83$ до $13323 \pm 3789,96$ ($p=0,001$), а у 44,83% пациентов были получены отрицательные результаты полимеразно-цепной реакции. У половины пациентов с исходно высоким содержанием количества копий дезоксирибонуклеиновой кислоты (10^4 – 10^5 копий) получен отрицательный результат полимеразно-цепной реакции в образцах слюны, у второй половины больных выявлено достоверное снижение количества копий дезоксирибонуклеиновой кислоты. У пациентов с низким количеством копий наблюдается обратный эффект, то есть после курса эфферентной терапии количество копий дезоксирибонуклеиновой кислоты вируса Эпштейна – Барр имеет тенденцию к увеличению, что подтверждается в реакции полимеразно-цепной реакции в образцах слюны. Это обусловлено выходом свободных вирусных частиц из зон депо за счет диффузии увеличенного объема циркулирующей крови в процессе проведения процедур. Тем не менее в общей группе пациентов уровень антител класса иммуноглобулина G к ядерному антигену вируса Эпштейна – Барр в сыворотке крови имеет тенденцию к снижению, а к капсидному белку вируса Эпштейна – Барр после проведения эфферентной терапии – достоверно уменьшается. После курса плазмообмена и плазмосорбции у пациентов отсутствуют жалобы на боли в горле и суставах, субфебрильную температуру, озноб, потливость и проявления стоматита. Курсовое применение плазмообмена и плазмосорбции повышает эффективность стандартной противовирусной терапии и может быть рекомендовано для пациентов, страдающих хронической инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна – Барр, в составе комплексного лечения.

Ключевые слова: хроническая инфекция, вызванная вирусом Эпштейна – Барр, эфферентная терапия, плазмообмен, плазмосорбция, количество копий дезоксирибонуклеиновой кислоты, антитела к капсидному антигену вируса Эпштейна – Барр, антитела к ядерному антигену вируса Эпштейна – Барр.

Введение. Хронические вирусные инфекции приводят к циркуляции вируса в периферической крови в течение длительного периода времени с неблагоприятными последствиями, ослабляющими иммунную систему. Одним из подходов к решению этой проблемы является поиск новых адсорбентов для связывания и удаления вирусных частиц из крови. Современные сорбционные технологии определяют возможности для снижения риска заражения различными вирусными агентами. Однако ни одна из используемых в настоящее время методик сорбционного афереза не инактивирует все типы вирусных патогенов. Включение сорбционных методик афереза с целью обеспечения вирусной безопасности является

неотъемлемой частью процесса производства биологических препаратов, полученных из плазмы. Наиболее перспективной методикой удаления вирусов является плазмосорбция [5]. За последние 15 лет были разработаны и внедрены эффективные методики инактивации вирусных агентов и усовершенствованы технологии производства [6]. В результате риск передачи вирусов иммунодефицита человека (ВИЧ), вирусов гепатита В (ВГВ) и С (ВГС) от любых продуктов, полученных из плазмы, изготовленных в соответствии с современными процедурами, практически исключен. Сохраняется остаточный риск передачи менее патогенных вирусов, в частности вируса гепатита А (ВГА) и парвовируса В19 (В19)

[21]. Одним из новых подходов является фильтрация растворов плазмопротеинов через коммерчески доступные мембраны, способные удерживать вирусы на основе просеивающего механизма. Большинство этих мембран являются многослойными, характеризуются средним размером пор в несколько нанометров (от 15 до 75 нм) и специально предназначены для удаления вирусов главным образом с помощью просеивающего механизма, поэтому технология называется нанофильтрацией (НФ), что отличает данную процедуру от других методик фильтрации с использованием мембран с большим размером пор, не предназначенных для удаления вирусов [7]. Фильтрацию невозможно проводить, если присутствуют белки, размер которых сопоставим или больше, чем вирусы или поры фильтра.

В промышленном масштабе НФ плазменных продуктов была внедрена в начале 1990-х годов для повышения вирусной безопасности продукта. НФ получила очень быстрое признание и распространение, так как это относительно простой производственный этап, который заключается в фильтрации белкового раствора через мембраны с очень маленьким размером пор (обычно 15–40 нм) в условиях, которые удерживают вирусы с помощью механизма, в значительной степени основанного на исключении размера. В настоящее время НФ является надежным способом уменьшения вирусных заболеваний, который может применяться практически ко всем плазменным продуктам, позволяющим эффективно удалять вирусы с оболочкой и без оболочки в условиях восстановления 90–95% активного белка. На рынке имеется четыре типа мембранных устройств для удаления вирусов. Эффективность удаления вируса и проницаемости белка зависит в большой степени от структуры мембран.

Фильтры фирмы «Vall Pall Ultipor» (Соединенные штаты Америки (США)) класса DV50 и DV20 представляют собой гидрофильные модифицированные PVDF микропористые плиссированные мембраны, которые работают в режиме прямой фильтрации потока, их производит фирма «Pall Corporation» (США). DV50 может удалять более 6 log вирусов размером более 50 нм. Было продемонстрировано 5-кратное снижение ВГВ и 2-3-кратное снижение ВГС. Показано, что фильтр пригоден для фильтрации растворов иммуноглобулина G и альбумина с выходом более 95% [5, 9, 20]. Фильтр DV20 может удалить более 3 logs вирусов размером более 20 нм [23]. Использование фильтра с размером пор 35 нм или 15 нм приводит к удалению как вирусов с оболочкой (ВИЧ и вирус псевдобешенства), так и вирусов без оболочки (ВГА и парвовирус). Апробация нанофильтрационных мембран фирмы «Planovase» (США) с размером пор 15 нм и 35 нм показала, что мембраны удаляли 6–7 log₁₀ фокусообразующих очагов мышиного ксенотропного ретровируса, обезьяньего вируса и вируса псевдобешенства [18]. Проведение

фильтрации с использованием фильтра ВММ-15 уменьшает содержание парвовируса В19 более чем на 6 log₁₀ [1]. Однако из белковых препаратов с высокой молекулярной массой, таких как иммуноглобулин G, трудно удалить небольшие вирусы, так как размер белка подобен размеру вирусов. Чтобы отделить вирусы от этих белков с помощью НФ, необходимо изменить размер одного из них. При агрегации человеческого парвовируса В19 в 0,3 M растворе глицина вирусная нагрузка снижается до 1:10 (7,5) (7,5-log) путем НФ с помощью фильтра с размером пор 35 нм. Точно так же В19 снижается при суспензировании в растворах других аминокислот. То есть вирусы в присутствии определенных видов аминокислот могут быть агрегированы и эффективно удалены с помощью фильтра, размер пор которого больше размера вирусов. Этот эффект также был подтвержден с другими небольшими вирусами человеческого энцефаломиокардита и свиного парвовируса [26].

Исследование продуктов иммуноглобулинов проводят с помощью НФ с использованием мембран «Planova» с контролируемым размером пор для удаления вируса. Для этих исследований очищенные препараты иммуноглобулинов (Ig G и M) проверяли с нанофильтрационными мембранами «Planovase» с диаметром пор 15 нм и 35 нм соответственно. Результаты исследований с четырьмя модельными вирусами показали, что мембраны «Planova» 15 и 35 нм удаляли 6–7 log₁₀ бляшек или очагов, формирующих единицы мышиного ксенотропного ретровируса, обезьяньего вируса 40 и вируса псевдобешенства. Мембрана «Planova» 15 нм удаляла полиовирус. Эксперименты по НФ проводились с концентрациями белка до 12 мг/мл для Ig G и 1–2 мг/мл для Ig M, при этом отмечалось превосходное извлечение белка.

Механизм просеивания особенно эффективен для вирусов, размер которых превышает средний размер пор мембраны. При меньшем или близком к среднему размеру пор на степень удаления могут влиять такие факторы, как состояние агрегации вируса, образование комплекса с антителами, содержание белка в растворе и адсорбция вирусов на поверхности мембраны, обусловленная эффектом заряда. В отличие от методик вирусной инактивации, которые убивают вирусы, но оставляют вирусные маркеры, такие как антигены и нуклеиновые кислоты с белковой смесью, НФ может полностью удалять эти маркеры.

На сегодняшний день не существует другой методики, подобной НФ с использованием мембран с маленьким размером пор, способной обеспечить степень уменьшения количества вирусов с оболочкой и без оболочки.

Учитывая эффективность данной методики в инактивации вирусных агентов, мы предположили, что ее применение можно использовать в лечении пациентов, страдающих хронической инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна – Барр.

Цель исследования. Оценка клинико-лабораторных эффектов курсового применения плазмообмена и плазмосорбции (ПО+ПС) с использованием лейкоцитарных фильтров для свежемороженой или нативной плазмы в комплексном лечении пациентов, страдающих хронической вирусной Эпштейн – Барр инфекцией.

Материалы и методы. Обследованы 29 пациентов, страдающих хронической инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна – Барр (ХВЭБИ). Средний возраст пациентов составлял $35,57 \pm 1,41$ года. Женщин было 16, мужчин – 13 человек. Средняя длительность ХВЭБИ от момента появления у пациентов первых жалоб до момента лабораторного подтверждения ХВЭБИ и постановки диагноза составила $2,25 \pm 0,18$ года. У всех пациентов отсутствовали какие-либо иммунологические нарушения или другие инфекции, которые могли бы объяснить наличие жалоб на момент начала исследования, а также сопутствующая хроническая патология, заболевания печени или почек, которые могли повлиять на результаты исследования. В исследование не были включены пациенты, которые за последние 3 месяца получали противовирусную или иммуномодулирующую терапию.

Клинические методики исследования включали в себя сбор анамнеза, данные о ранее проводимой противовирусной терапии, наличии сопутствующих заболеваний. Клиническое состояние пациентов оценивалось по общепринятой методике, включающей объективные данные и жалобы пациента на момент осмотра. Клинический осмотр включал оценку местных признаков воспаления (наличие и степень гиперемии слизистой оболочки задней стенки глотки, миндалин, наличие слизисто-гнойных налетов, фолликулов на задней стенке глотки и отека языка), оценку состояния всех групп периферических лимфатических узлов и измерение температуры тела. Регистрация жалоб пациента проводилась с использованием 3-балльной шкалы субъективной оценки (0 – отсутствие симптомов, 1 – слабая выраженность симптомов, 2 – умеренная выраженность симптомов, 3 – значительная выраженность симптомов). Аллергологическое обследование пациентов включало сбор аллергологического, фармакологического и пищевого анамнезов, исследование специфических иммуноглобулинов Е на аллергены. Пациенты с выявленным аллергологическим анамнезом в исследование не включались.

Ранее все обследуемые пациенты по назначению врача или самостоятельно (часто неоднократно) получали терапию препаратами группы ациклических естественных нуклеозидов, ацикловиrom или валтрексом короткими курсами (7–10 дней). Выраженного клинико-лабораторного эффекта от проводимой ранее терапии у пациентов не было. Именно поэтому всем больным был проведен курс эфферентной терапии, который включал 5 процедур ПО+ПС на аппарате «Haemonetics PCS-2» (США) с использованием лей-

коцитарных фильтров для свежемороженой или нативной плазмы типа LPS2KLE фирмы «PALL GmbH» (Великобритания). Фильтры разработаны для профилактики трансфузионной передачи цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции.

При выполнении процедуры ПО+ПС были учтены технические характеристики фильтров данного типа и их механизм фильтрации, включающий механический, адгезивный и адсорбционный путь элиминации вирусных частиц из нативной плазмы. При проведении процедуры ПО+ПС использовались аппарат фирмы «Haemonetics PCS-2» (США), контейнер для сбора плазмы (удвоенный типа КП 692-2 500/500 мл), колокол центрифужный, магистраль для сбора плазмы, цитрат натрия 4% – 250 мл, устройство для удаления лейкоцитов из эритроцитной массы и цельной консервированной крови ПК 02-01, лейкоцитарный фильтр для свежемороженой или нативной плазмы LPS2KLE фирмы «PALL GmbH» (Великобритания).

Предоперационная подготовка включала гемодилюцию с применением 0,9% раствора натрия хлорида в объеме 400 мл, системную гепаринизацию из расчета 70–100 Ед гепарина/кг массы тела, забор крови во время процедуры и элиминации плазмы со скоростью 60–80 мл/мин, скорость возврата составляла 55–75 мл/мин (рис. 1).

С учетом технических характеристик данного типа фильтра дополнительного оборудования для возврата аутоплазмы не требовалось. Аутоплазма возвращалась самотеком после переворачивания пакета и установок в штатив аппарата одновременно с циклом реинфузии клеточной массы (рис. 2).

Временной интервал на элиминацию и возврат 250–300 мл плазмы за цикл составил 15–25 мин. Общее время проведения операции с учетом предоперационной гемодилюции, времени проведения самой операции и послеоперационной заместительной терапии составило от 3,5 до 5 ч.

С учетом производительности данного типа фильтров в зависимости от массы тела пациента и объема циркулирующей плазмы (ОЦП) в процессе операции проводилась замена адаптивного фильтра к устройству для удаления лейкоцитов из эритроцитарной массы ПК 02-01 (производительность лейкоцитарных фильтров для свежемороженой или нативной плазмы LPS2KLE составляет 1600 мл за процедуру). Таким образом, во время операции ПО+ПС обработке подвергалось от 2100 до 3200 мл аутоплазмы (100–120% ОЦП). Расход антикоагулянта (4% цитрат натрия) в среднем составлял от 150–200 мл.

Данная методика позволяет проводить процедуры сорбционного афереза в условиях дневного стационара в амбулаторном режиме и имеет следующие преимущества:

1) операции ПО+ПС проводятся по одноигольной схеме подключения (контуру), что не требует дополнительной венепункции;

2) фильтрующий элемент не требует предварительной подготовки (увлажнения), фильтр заполня-

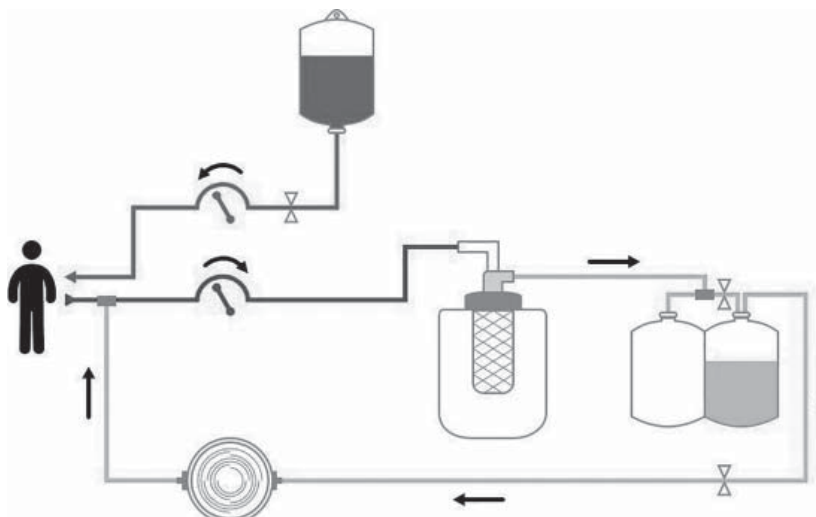


Рис. 1. Схема процедуры плазмообмена

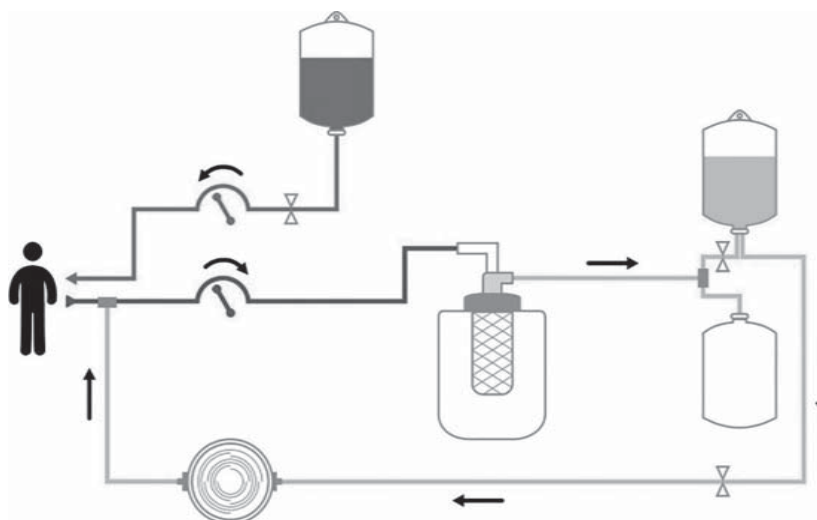


Рис. 2. Схема процедуры плазмосорбции

ется путем стерильного удаления воздуха из системы через специальный воздушный фильтр;

3) отсутствует необходимость дополнительного оборудования (насоса для возврата аутоплазмы);

4) имеется специальный коннектор с интегрированным фильтром для стерильного подсоединения, обеспечивающего сохранение «закрытой системы»;

5) отсутствует необходимость послеоперационной заместительной терапии коллоидными и плазмозамещающими растворами и донорской свежезамороженной плазмой;

6) при необходимости возможно завершение операции в комбинированном виде в сочетании с операциями плазмафереза (ПФ), малообъемного ПФ, а также экстракорпорального введения противовирусных и иммунопрепаратов;

7) отсутствуют противопоказания для проведения послеоперационной фармакотерапии по рекомендациям профильных специалистов.

С целью подтверждения вирусной этиологии заболевания у пациентов проводилось выявление дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) вируса путем полимеразной цепной реакции (ПЦР) в образцах слюны с учетом того, что при хронических формах инфекции исследование ПЦР в образцах крови не дает положительного результата. Количественное определение ДНК вируса Эпштейна – Барр (ВЭБ) в образцах слюны проводили используя ПЦР с гибридизационно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени. Для этого использовали тест-системы «Ампли Сенс EBV/CMV/HHV6-скрин-FL», разработанные Центральным научно-исследовательским институтом эпидемиологии (Россия). Единицы измерения, используемые для оценки вирусной нагрузки при экстракции ДНК из слюны, – количество копий ДНК ВЭБ на мл образца (КПДНК). Этот показатель рассчитывается по формуле из инструкции к набору: $КПДНК = КДНК \times 100$ (копий/мл), где КДНК – количество копий ДНК ВЭБ в пробе

ДНК. Аналитическая чувствительность тест-системы составляет 400 копий/мл.

Количественное определение антител класса Ig G к ядерному антигену вируса Эпштейна – Барр (antibodies to Epstein – Barr Virus Nuclear Antigen – anti-EBNA-1 Ig G) проводили с помощью твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем фирмы «Euroimmun» (Германия) согласно инструкции фирмы-производителя. Поскольку в настоящее время не существует международного стандарта (референтной сыворотки с антителами EBNA-1), набор откалиброван в относительных единицах (оЕд/мл). Тест-системы сохраняют линейность в интервале измерения 12–126 оЕд/мл. Аналитическая чувствительность тест-систем – 0,9 оЕд/мл. При концентрации антител в исследуемой сыворотке более 200 оЕд/мл проводилось повторное исследование с дополнительным разведением образца.

Количественное определение антител класса Ig G к капсидному белку вируса Эпштейна – Барр (anti-Epstein – Barr viral capsid antigens – anti-VCA Ig G) проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-систем «Euroimmun» (Германия) согласно инструкции фирмы-производителя. Поскольку в настоящее время не существует международного стандарта (референтной сыворотки с anti-EBNA-1), набор откалиброван в относительных единицах оЕд/мл. Линейность тест-систем сохраняется в интервале измерения 2–200 оЕд/мл. Аналитическая чувствительность тест-систем – 1 оЕд/мл. При концентрации антител в исследуемой сыворотке более 200 оЕд/мл проводилось повторное исследование с дополнительным разведением образца.

Для оценки эффектов проводимого лечения через месяц после окончания курса терапии был проведен анализ динамики количества ДНК ВЭБ в образцах слюны и клинических жалоб в обеих группах.

Статистический анализ полученных результатов проводился с помощью статистического пакета программного обеспечения IBM SPSS Statistics, версия 26. Групповые результаты представлены в виде средней ± стандартная ошибка от средней (M±Standard Error). Статистическая обработка результатов проводилась с использованием параметрических (метод Пирсона) и непараметрических (метод Спирмена, тау(τ) Кендалла) критериев. Критический уровень значимости различия показателей принимали равным 0,05.

Результаты и их обсуждение. Из анамнеза известно, что у 18 (62,06%) пациентов в детстве было неоднократное обострение хронического тонзиллита, 10 (34,48%) пациентов перенесли острый инфекционный мононуклеоз, 15 (51,72%) – жаловались на частые острые респираторные вирусные инфекции (от 6 до 10 раз в год), 22 (75,86%) – связывали появление клинических жалоб с длительным стрессом. У 19 (67,85%) пациентов выявлена патология желудочно-кишечного

тракта (хронический гастродуоденит и холецистит, синдром раздраженного кишечника).

До начала терапии колебания количества копий ДНК ВЭБ на мл образца слюны в группе пациентов, страдающих ХВЭБИ (29 пациентов), составили от 1×10^3 до $9,68 \times 10^5$ копий. Через 10 дней количество копий ДНК ВЭБ в группе пациентов, получавших ПО+ПС, уменьшилось на 314160,33 (табл. 1).

Однако исходное количество копий ДНК ВЭБ в 1 мл слюны до проведения курса ПО+ПС у пациентов было различное. Поэтому был проведен анализ динамики количества копий ДНК ВЭБ в зависимости от исходного уровня. Пациенты были разделены на три группы. 1-я группа – 20 пациентов с количеством копий 10^5 , 2-я группа – 6 пациентов с количеством копий 10^4 и 3-я группа – 3 пациента с количеством копий 10^3 .

Установлено, что при исходно высоком содержании количества копий ДНК (1-я и 2-я группы) отрицательный результат ПЦР в образцах слюны был получен у 50% пациентов, а у 50% пациентов было обнаружено достоверное снижение количества копий ДНК. При низком количестве копий ДНК ВЭБ отмечалась тенденция к увеличению содержания количества копий ДНК после проведения курса ПО+ПС (табл. 2).

Далее был проведен анализ динамики уровня антител IgG EBNA-1 и IgG VCA после проведения курса ПО+ПС. Выявлено, что достоверное снижение уровня IgG VCA отмечается после курса ПО+ПС (табл. 3).

Через 10 дней после курса ПО+ПС у пациентов достоверно уменьшились жалобы на субфебрильную температуру, боли в горле и суставах, озноб, потливость и проявления стоматита. Остальные жалобы имели тенденцию к уменьшению проявления. Все пациенты отмечали выраженное улучшение общесоматического состояния после окончания курса (табл. 4).

Таким образом, нами показано, что свободные вирионы ВЭБ элиминируются в общей группе ХВЭБИ только у 44,83% пациентов. Но процент элиминации зависит от исходного количества копий ДНК ВЭБ до начала курса ПО+ПС. Терапия одинаково эффективна при количестве копий 10^4 и 10^5 (50% и 50% соответственно). У пациентов с низким количеством копий наблюдается обратный эффект, то есть после курса терапии количество копий ДНК ВЭБ имеет тенден-

Таблица 1
Динамика количества копий ДНК ВЭБ через 10 дней после окончания курса ПО+ПС у пациентов, страдающих ХВЭБИ

Количество копий/мл		p=
до терапии	после терапии	
327483,33±87070,83 (n=29) 95% CI: 193613,07 – 537417,37	13323,00±3789,96 (n=16) 95% CI: 6563,77 – 20632,43 У 13 (44,83%) пациентов – 0,00 копий	0,001

Таблица 2

Динамика количества копий ДНК ВЭБ через 10 дней после окончания курса ПО+ПС у пациентов, страдающих ХВЭБИ, в зависимости от исходного уровня количества копий ДНК ВЭБ

Группа	Количество копий/мл		p=
	до терапии	после терапии	
1-я	335490,00±42337,1 (n=20) Me=282500,00 95% CI: 257076,35 – 419486,02	12879,00±4675,49 (n=10) Me=1040,00 95% CI: 4503,53 – 22640,89 У 10 (50%) пациентов – 0 копий	0,0001
2-я	39116,67±9242,55 (n=6) Me=28900 95% CI: 24300 – 58781,64	17016,67±9066,67 (n=3) Me=8000 95% CI: 2666,67 – 35183,33 У 3 (50%) пациентов – 0 копий	0,025
3-я	2600±1135,23 (n=3) Me=2610,00 95% CI: 1000 – 5400	3870±1976,54 Me=2610 95% CI: 400 – 8600	0,367

Таблица 3

Динамика уровня антител IgG EBNA-1 и IgG VCA через 10 дней после окончания курса ПО+ПС у пациентов, страдающих ХВЭБИ

Показатель	Уровень антител		p=
	до терапии, ЕД/мл	после терапии, ЕД/мл	
IgG EBNA-1	163,74±39,35 95% CI: 91,29 – 207,66	135,23±29,06 95% CI: 114,79 – 211,30	0,401
IgG VCA	316,56±110,96 95% CI: 187,10 – 523,45	128,67±33,94 95% CI: 91,31 – 162,8	0,028

Таблица 4

Частота клинических жалоб у пациентов до начала терапии и через 10 дней после ее окончания, %

Жалобы	До проведения курса ПО+ПС	После проведения курса ПО+ПС	p=
Субфебрильная температура	71,4	35,7	0,009
Лимфаденит	57,14	35,7	0,062
Боли в горле	85,71	57,14	0,001
Слабость	92,86	71,42	0,052
Озноб	75,00	28,57	0,001
Потливость	92,85	60,71	0,001
Стекание слизи	64,28	42,86	0,058
Стоматит	39,28	21,43	0,005
Боли в суставах	57,14	25,00	0,011
Раздражительность и плаксивость	85,71	67,86	0,057
Высыпания на коже	46,43	32,14	0,054

цию к увеличению, что подтверждается в реакции ПЦР в образцах слюны. Возможно, это обусловлено выходом свободных вирусных частиц из зон депо за счет диффузии увеличенного объема циркулирующей крови в процессе проведения процедуры ПО+ПС. Учитывая нежелательное проведение более длительного курса (более 5 операций на курс) ПО+ПС у пациентов с исходно низким количеством копий ДНК ВЭБ, целесообразно проведение повторного курса экстракорпоральной терапии после использования противовирусных препаратов. Тем не менее в общей группе пациентов уровень anti-EBNA-1 IgG в сыворотке имеет тенденцию к снижению, а уровень anti-VCA IgG достоверно значимо уменьшается после проведения курса процедур. Содержание общего белка в сыворотке крови до и после курса ПО+ПС достоверно не менялось.

Изначально мы предполагали, что схожесть размера генома ВЭБ и ЦМВ позволит получить аналогичные результаты, то есть приблизительно 100% адсорбцию ВЭБ при использовании LPS2KLE фильтров. Однако полученные результаты исходную предпосылку не подтвердили. Возможно, это обусловлено тем, что геном ВЭБ может интегрироваться в хромосомы человека [13, 14, 17]. Тем не менее, согласно полученным нами данным, проведение курса ПО+ПС можно использовать в качестве дополнительной терапии в сочетании с традиционными противовирусными препаратами, что позволяет повысить эффективность стандартной противовирусной терапии, так как количество вирусных копий будет поддерживаться на стабильно минимальном уровне.

Выводы

1. Курсовое применение ПО+ПС рекомендовано для лечения пациентов, страдающих ХВЭБИ, в качестве дополнительной терапии.
2. Курс ПО+ПС повышает эффективность стандартной противовирусной терапии.

Литература

1. Abe, H. Removal of parvovirus B19 from hemoglobin solution by nanofiltration / H. Abe [et al.] // Artif. Cells Blood Substit. Immobil. Biotechnol. – 2000. – № 5. – P. 375–383.
2. Bernasconi, M.C. Quantitative profiling of housekeeping and Epstein-Barr virus gene transcription in Burkitt lymphoma cell lines using an oligonucleotide microarray / M.C. Bernasconi [et al.] // Virol. – 2006. – Vol. 3. – P. 43.
3. Brandwein, H. Membrane filtration for virus removal / H. Brandwein, H. Aranha-Creado // Dev. Biol. – 2000. – Vol. 102. – P.157–163.
4. Burnouf, T. Reducing the risk of infection from plasma products; specific preventative strategies / T. Burnouf, M. Radosevich // Blood Rev. – 2000. – Vol. 14. – P. 94–110.
5. Burnouf, T. Nanofiltration of plasma-derived biopharmaceutical products / T. Burnouf, M. Radosevich // Haemophilia. – 2003. – № 1. – P. 24–37.
6. Graf, E.G. Virus removal by filtration / E.G. Graf [et al.] // Dev. Biol. Stand. – 1999. – P. 9989–9994.
7. Hurley, E.A. When Epstein-Barr virus persistently infects B-cell lines, it frequently integrates / E.A. Hurley [et al.] // J. Virol. – 1991. – Vol. 65. – P. 1245–1254.

8. Kaschka-Dierich, C.L. Human lymphoblastoid cell lines derived from individuals without lymphoproliferative disease contain the same latent forms of Epstein-Barr virus DNA as those found in tumor cells / C.L. Kaschka-Dierich [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 1977. – Vol. 20. – P.173–180.
9. Koliadis, S.I. Mode of integration of Epstein-Barr virus genome into host DNA in Burkitt lymphoma cells / S.I. Koliadis // *J. Gen. Virol.* – 1979. – Vol. 44. – P. 573–576.
10. Kripalani-Joshi, S. Identification of integrated Epstein-Barr virus in nasopharyngeal carcinoma using pulse field gel electrophoresis / S. Kripalani-Joshi, H.Y. Law // *Int. J. Cancer.* – 1994. – Vol. 56. – P. 187–192.
11. Luo, W.-J. Epstein-Barr virus is integrated between REL and BCL-11A in American Burkitt lymphoma cell line (NAB-2) / W.-J. Luo [et al.] // *Laboratory Investigation.* – 2004. – Vol. 84. – P. 1193–1199.
12. Matsuo, T.M. Persistence of the entire Epstein-Barr virus genome integrated into human lymphocyte DNA / T.M. Matsuo [et al.] // *Science.* – 1984. – Vol. 226. – P. 1322–1325.
13. O'Grady, J. Virus removal studies using nanofiltration membranes / J. O'Grady [et al.] // *Dev. Biol. Stand.* – 1996. – Vol. 88. – P. 319–326.
14. Oshima, K.H. Integrated Epstein-Barr virus (EBV) and chromosomal abnormality in chronic active EBV infection / K.H. Oshima [et al.] // *Int. J. Cancer.* – 1997. – Vol. 71. – P. 943–947.
15. Oshima, K.H. Comparison of filtration properties of hepatitis B virus, hepatitis C virus and simian virus 40 using a polyvinylidene fluoride membrane filter / K.H. Oshima [et al.] // *Vox Sang.* – 1998. – Vol. 75. – P. 181–188.
16. Prowse, C. Human parvovirus B19 and blood products / C. Prowse [et al.] // *Vox Sang.* – 1997. – Vol. 72. – P. 1–10.
17. Validation Guide VG-DV20, Pall ULTIPOR VF Grade DV20 AB style virus removal filter cartridges // Pall Bio Pharmaceuticals. – 2002. – P. 1–28.
18. Yokoyama, T. Removal of small non-enveloped viruses by nanofiltration / T. Yokoyama [et al.] // *Vox. Sang.* – 2004. – Vol. 86, № 4. – P. 225–229.

I.A. Rakityanskaya, T.S. Ryabova, U.A. Todzhibaev, A.A. Kalashnikov,
A.N. Belskich, M.V. Zakharov, A.S. Manuilov, A.V. Savateev

The use of efferent therapy techniques in the complex treatment of patients suffering from chronic Epstein – Barr virus infection

Abstract. The possibility of using efferent therapy techniques in the complex treatment of patients with chronic Epstein – Barr virus infection is substantiated. It was established that prior to the therapy, the fluctuation in the number of copies of the deoxyribonucleic acid of Epstein – Barr virus per 1 ml of saliva sample in the group of patients suffering from chronic Epstein – Barr virus ranged from 1×10^3 to $9,68 \times 10^5$ copies. 10 days after the course of procedures (plasma exchange + plasma sorption), 55% of patients showed a significantly significant decrease in the number of copies of the deoxyribonucleic acid of Epstein – Barr virus from $327483,33 \pm 87070,83$ to $13323 \pm 3789,96$ ($p=0,001$) and 44,83% of patients received negative results of the polymerase chain reaction. Half of patients with initially high content of deoxyribonucleic acid copies (10^5 – 10^4 copies) had a negative polymerase chain reaction in saliva samples, half of another patients showed a significantly significant decrease in the number of deoxyribonucleic acid copies. In patients with a low number of copies, the opposite effect is observed, that is, after a course of efferent therapy, the number of copies of Epstein – Barr deoxyribonucleic acid tends to increase, as confirmed by the polymerase chain reaction in saliva samples. This is due to the release of free virus particles from the depot areas due to the diffusion of an increased volume of circulating blood during the procedures. However, in the general group of patients, the level of antibodies of the immunoglobulin G class to the nuclear antigen of the Epstein – Barr virus in the blood serum tends to decrease, and the level of antibodies of the immunoglobulin G class to the capsid protein of the Epstein – Barr virus significantly decreases after efferent therapy. After a course of plasma exchange + plasma adsorption, patients have no complaints of pain in the throat and joints, low-grade fever, chills, sweating and manifestations of stomatitis. The course application of plasma exchange + plasma adsorption increases the effectiveness of standard antiviral therapy and can be recommended for patients suffering from chronic Epstein-Barr virus infection as part of a comprehensive treatment.

Key words: chronic Epstein – Barr virus infection, congenital immune response, efferent therapy, plasma exchange, plasma sorption, number of copies of deoxyribonucleic acid, antibodies to the capsid antigen Epstein – Barr virus, antibodies to the nuclear antigen of Epstein – Barr virus.

Контактный телефон: 8-921-405-98-85; e-mail: vmeda-nio@mil.ru